

論文内容の要旨

論文題目 心臓の機械的伸展により誘発される不整脈の 機序についての実験およびシミュレーションによる検討

氏名 瀬尾 欣也

心臓への機械的負荷がその電気生理学的挙動に影響を与えることは古くから知られており、Mechano-Electric Feedback (MEF) と呼ばれている。心筋梗塞や心不全のような心室壁に異常な負荷のかかる病態において、MEF は正常な心拍リズムを乱す働きをしていると考えられている。これまでの基礎研究から、伸展により開く stretch-activated channels (SACs) を介した電流が、MEF に対して重要な役割を果たしているのではないかと考えられているがその機序については不明な点が多く、SACs の存在箇所すら明らかになっていない。細胞膜の陥入構造である T 管に SACs は存在しているのではないかと考えられているが、その検討はなされていない。一方で伸展刺激による不整脈の誘発には細胞内カルシウム動態も深く関わっているのではないかと考えられている。伸展刺激により細胞内でカルシウム放出が誘発されることは確認されているが、これがどのような機序で生じるかは明らかにされていない。さらに、細胞レベルで見られる MEF が、如何にして臓器レベルの不整脈に繋がるかも不明である。以上、1) SACs の T 管への局在可能性の検討、2) 伸展刺激による細胞内カルシウム放出機構の解明、3) 細胞レベルの MEF と臓器レベルの不整脈の繋がり の理解、という 3 つの目的を掲げ、細胞・組織レベルの実験及びコンピュータシミュレーションにより検討を進めた。

ラット単離心筋細胞に対して、カーボンファイバー伸展技術により伸展刺激を加え、その膜電位応答、カルシウム動態を、それぞれ光電子増倍管、レーザー共焦点顕微鏡により測定した。T 管への局在性の検討では、薬剤により T 管を切除し、T 管有無での膜電位変化の違いを調べた。伸展刺激に対する細胞内カルシウム動態に関しては、SACs や L 型カルシウムチャネル (LTCC) の阻害薬などを用い、伸展刺激に対して各チャネルが如何にカルシウム放出に寄与するかを調べた。その結果、正常細胞では伸展刺激の強度が大きくなるにつれて、膜電位応答も増加し、これらの応答は SACs の阻害薬によって抑制された。T 管切除細胞でも同様に膜電位応答を調べたところ、正常細胞に比べて膜電位変化が大きく減弱し、このことから SACs は T 管に局在することが示唆された。カルシウム応答に関しては、伸展刺激によって時折局所からのカルシウム放出 (カルシウム・スパーク、カルシウム・ウェイブ) が観察された。SACs、LTCC を阻害して両者の結果を比較検討したところ、細胞に加わった伸展刺激が局所的に大きくなった際に、局所の LTCC から流入するカルシウムイオンが、局所の SR からのカルシウム放出 (CICR) を誘引し、これがカルシウム・スパーク、カルシウム・ウェイブとして観察されることが推測された。

次に、細胞レベルの MEF が臓器レベルの不整脈に如何に繋がるかを、組織レベルの実験及びシミュレーションにより検討した。ウサギ右室自由壁の動脈灌流組織標本を作成し、リニアモータによる伸展時の膜電位応答を、光学的膜電位マッピング装置により計測した。また組織伸展時の歪み分布を測定し、膜電位分布と比較検討した。その結果、大きな伸展刺激 ($\geq 20\%$) に対しては組織全体からの一様な興奮が見られたのに対し、中程度の伸展刺激 (10~15%) に対しては、一様な伸展を加えているにも関わらず、

不均一な膜電位上昇が見られ、興奮は局所から生じた。また、このときの歪分布は不均一になっており、興奮は局所的にできた大きな歪箇所から生じていることが確認できた。この歪分布の不均一性は、組織の不均一な構造に起因していることが確認でき、さらに、この不均一な構造により生み出される組織の興奮の不均一性は、中程度の伸展刺激時に最大になることが示された。この中程度の伸展刺激時に見られる興奮の不均一性が不整脈に繋がり得るかを調べる目的で、組織形状を模擬した有限要素モデルを作成し、さらに SACs を含めた電気生理モデルを組み込んだ電気-機械統合型の心筋数理組織モデルを構築した。このモデルによるシミュレーションの結果、中程度の伸展刺激では、局所から生じた興奮がスパイラル・ウェイブに発展されたのに対し、大きな伸展刺激では興奮は広域で一様に起こり、その後すぐに消失した。

以上結論として、細胞レベルの実験から、SACs は T 管に局在することが示唆され、また伸展刺激により誘発されるカルシウム放出は、細胞に局所的に大きく加わった歪箇所において LTCC からのカルシウムイオン流入が局所の SR からのカルシウム放出を誘引する結果であることが示唆された。さらに、細胞レベルでは膜電位は伸展刺激強度依存的に変化したのに対し、組織レベルでは一様な伸展刺激に対しても組織の不均一な構造により局所からの興奮が生じることが実験により確認された。また、シミュレーションから、この局所からの興奮は中程度の伸展刺激時に最も顕著に見られ、それが致死的不整脈の発生に繋がる可能性が示唆された。